CROISSANCE DE L'EPINE PECTORALE, HISTOLOGIE OSSEUSE ET DIMORPHISME SEXUEL CHEZ L'ATIPA, *HOPLOSTERNUM LITTORALE* HANCOCK, 1828 (CALLICHTHYIDAE, SILURIFORME) *

par

T. BOUJARD (1) et F.J. MEUNIER (2)

RÉSUMÉ. - Une étude de la dynamique de l'ostéogenèse de l'épine pectorale d'*Hoplosternum littorale*, a été conduite à partir de poissons injectés avec des fluoromarqueurs de l'os et élevés en bassins. La vitesse de l'ostéogenèse diminue à l'âge de 4-5 mois. Elle présente, cependant, une nette accélération, indépendante de l'âge, en fin de saison sèche, dans certains secteurs de l'épine des mâles. L'os se dépose alors à une vitesse moyenne atteignant 23 μm/j et il est très vascularisé. Il y a un net synchronisme entre cette reprise de l'ostéogenèse chez les mâles et leur maturation génitale.

ABSTRACT. - Growth of the pectoral spiny ray, bony histology and sexual dimorphism in atipa, *Hoplosternum littorale* Hancock, 1828 (Callichthyidae, Siluriforme).

The dynamic of the osteogenesis of pectoral spiny ray in atipa, *Hoplosternum littorale* Hancock 1828, has been studied in fishes injected with fluorochromes and reared in experimental ponds. The osteogenesis rate decreases at 4-5 months in females and males. Nevertheless, this rate clearly raised in a typical region of the ray in the males at the end of the dry season. In this region the average rate of bone tissue deposit can reach 23 μm/j and it typically shows a dense vascularization that characterises a fast growth. There is a close synchronism between this raise in bone osteogenesis and the genital maturation in the males.

Mots-clés. - Callichthyidae, *Hoplosternum littorale*, French Guiana, Sexual dimorphism, Growth, Bone histology, Vital labelling, Seasonal cycles.

La Guyane française présente un climat tropical humide, rythmé par l'alternance de quatre saisons de durée et d'amplitude inégales. Ce sont successivement la grande saison des pluies (avril-juin), la grande saison sèche (juillet-novembre), la petite saison des pluies (décembre-février) et la petite saison sèche (ou été de mars) (Boyé *et al.*, 1979). Ce rythme saisonnier se traduit, chez divers téléostéens (*Arius proops, A. couma, Leporinus friderici* et *Myleus rhomboidalis*), par un rythme de croissance annuel caractérisé par deux périodes de croissance active (saisons des pluies) séparées par des phases de ralentissement ou d'arrêt de croissance (saisons sèches) (Lecomte *et al.*, 1985, 1986, 1989; Meunier *et al.*, 1985).

L'atipa, *Hoplosternum littorale* Hancock, 1828, est un poisson d'intérêt économique en Guyane (Boujard *et al.*, 1988). Il présente des marques de croissance squelettiques caractéristiques sur ses épines pectorales, comme c'est le cas chez les Ariidae. Le déterminisme de la formation de ces marques est sans doute proche de celui des espèces déjà citées. Cependant, la présence d'un important

(1) Laboratoire d'Hydrobiologie, INRA, BP 709, 97387 Kourou cedex, GUYANE FRANÇAISE.
(2) URA CNRS 1137, Equipe de Recherche "Formations squelettiques", Laboratoire d'Anatomie comparée, Université Paris 7, 2 Place Jussieu, 75251 Paris cedex 05, FRANCE.
* Les demandes de tirés à part sont à adresser à F.J. MEUNIER.

dimorphisme sexuel qui affecte la croissance de l'atipa et surtout la morphologie de ses épines pectorales (Machado-Allison et Zaret, 1984; Winemiller, 1987) peuvent poser des problèmes théoriques et pratiques importants pour l'application, à cette espèce, de la méthode squelettochronologique destinée à déterminer l'âge individuel. En effet, lors de la maturation génitale, les épines pectorales des mâles montrent un épaississement important dû, d'une part, au développement d'une glande à mucus (Machado-Allison et Zaret, 1984) et, d'autre part, à une ostéogenèse plus active que chez la femelle.

Nous avons entrepris de suivre la croissance de l'épine pectorale chez des atipas (mâles et femelles) lors de leurs 12 premiers mois de vie afin d'analyser les transformations histo-morphologiques des tissus osseux qui la constituent. A cette fin, nous avons utilisé les techniques du marquage vital (Weber et Rigdway, 1967; Meunier, 1974; Meunier et Boivin, 1978; Meunier et Pascal, 1981) qui permettent de suivre la dynamique de l'ostéogenèse et de la quantifier.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Elevage des animaux

L'expérimentation a été conduite sur deux lots de 42 et 28 individus issus de fratries nées au laboratoire, respectivement les 22 février 1988 et 6 juin 1988. Les poissons sont élevés en très faible densité, chaque lot étant maintenu dans un bassin en terre de 500 m^2, à l'air libre. Ils sont nourris avec des aliments artificiels (Aqualim) à raison de 3,5% du poids vif par jour. La quantité d'aliments est réactualisée tous les deux mois à l'occasion de chaque manipulation qui intervient lors de la vidange des bassins. Les individus sont alors pesés et injectés avec des fluorochromes.

Le niveau de l'eau des bassins est maintenu constant grâce à un trop-plein. Son renouvellement, de l'ordre de 5% par jour, est assuré par un pompage de l'eau du fleuve Kourou situé à proximité. La température de l'eau des bassins varie de 26 à 32°C; elle est directement liée à l'ensoleillement et donc à la saison.

Fluoromarqueurs

Trois fluorochromes ont été administrés alternativement par voie intrapéritonéale (Tableau I): la fluorescéine (DCAF) à 40 mg/Kg, l'orangé de xylénol (OrX) à 90 mg/Kg et la tétracycline (chlorhydrate de tétracycline, CHTC) à 50 mg/Kg. Au total, 6 injections séparées par des intervalles de 2 mois ont été pratiquées au cours de la première année de vie des animaux. Après 12 mois d'élevage pour le premier lot et 14 mois pour le second, une partie des animaux a été sacrifiée soit respectivement 10 mâles, 10 femelles et 1 mâle, 8 femelles. Les épines ont été prélevées, fixées dans l'alcool 70° et conservées à l'obscurité. Les autres spécimens, maintenus en bassins, ont fait l'objet d'un suivi à plus long terme.

Confection des coupes

Des coupes transversales sont faites dans la partie basale de l'épine près de la zone d'articulation sur la ceinture (Fig. 1a,b,c). Des coupes sagittales ou frontales sont réalisées sur le morceau d'épine (fragment de 5 à 8 mm; voir figure 1) situé juste au-dessus des coupes transversales.

Les épines incluses dans du stratyl sont tronçonnées avec une scie diamantée (Isomet). Les tranches ainsi réalisées (environ 150 μm d'épaisseur) sont usées jusqu'à une épaisseur comprise entre 40 et 80 μm. Les lames minces obtenues sont observées avec un microscope à fluorescence (filtres d'excitation BG12 + BG38, filtre d'arrêt K530).

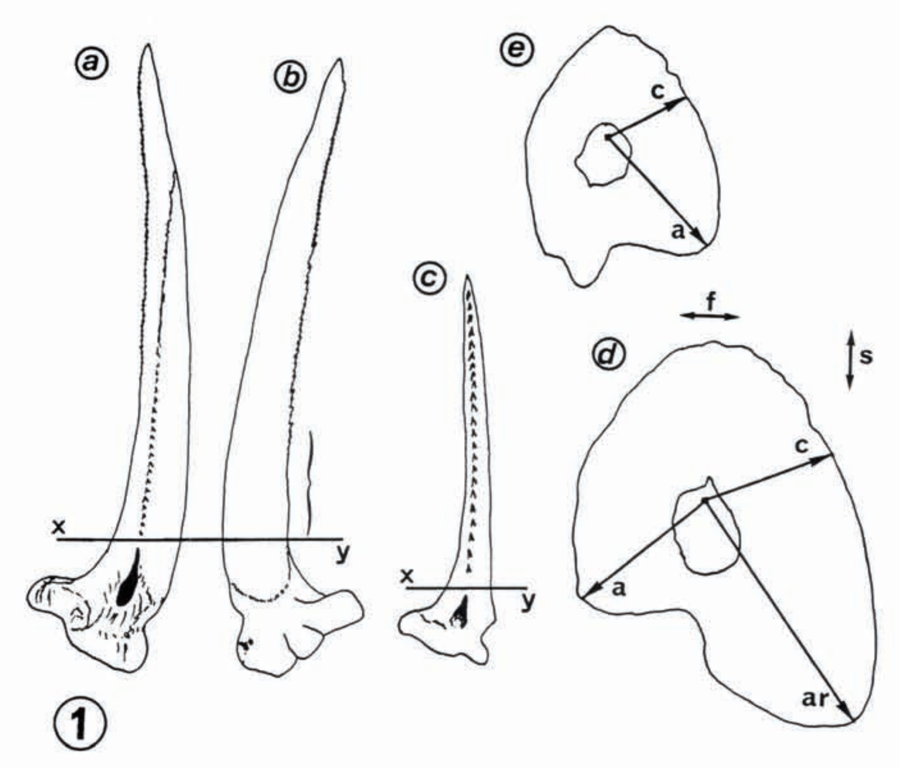


Fig. 1. - a à c) Localisation du niveau de coupe (xy) sur les épines pectorales: faces postérieure (a) et antérieure (b) de l'épine droite du mâle; face postérieure (c) de l'épine droite de la femelle; d,e) localisation des trois axes de mesure chez le mâle (d) et chez la femelle (e). a = aile; c = côté; ar = aile avec reprise de l'ostéogenèse. L'accolade délimite le secteur des coupes frontales (f) ou sagittales (s). [*a to c) Localization of the section level (xy) on the pectoral spiny rays: posterior (a) and anterior (b) sides of the rigth spiny ray of the male; posterior side (c) of the right spiny ray of the female; d,e) localization of the measurement axis in the male (d) and in the female (e). a = postero-lateral side; c = side; ar = postero-lateral side with renewal of osteogenesis. The bracket demarcates the area of the frontal (f) or sagittal (s) sections.*]

Tableau I. - Calendrier des injections. n = nombre de survivants; DCAF = Fluorescéine; CHTC = Tétracycline; OrX = Orangé de xylénol. [*Time-table of the injections. n = number of the surviving specimens; DCAF = Calcein; CHTC = Tetracycline; OrX = Xylenol orange.*]

Date	Fratrie 1 Fluorochrome	Fratrie 1 Observations	Fratrie 2 Fluorochrome	Fratrie 2 Observations
22/02/88		naissance		
07/04/88	DCAF	n = 44		
31/05/88	Orx	n = 40		
06/06/88				naissance
01/08/88	CHTC	n = 39; sexables		
01/09/88			DCAF	n = 28
30/09/88	DCAF			
02/11/88			Orx	n = 27; sexables
06/12/88	Orx			
02/01/89			CHTC	
06/02/89	CHTC	abattage		
07/03/89			DCAF	
17/05/89			Orx	n = 23
26/07/89			CHTC	abattage

Des microradiographies sont effectuées sur film à haute résolution (SO 643, Kodak) avec un générateur à rayons X (Sigma 60-CGR) sous une tension de 20 KV et avec une intensité de 8 mA.

Prise des mesures

Pour étudier la vitesse de l'ostéogenèse périostique des épines au cours de la phase expérimentale, deux coupes transversales sont sélectionnées. Pour tenir compte des différences de croissance, d'une part, et des caractéristiques histologiques des différentes régions, d'autre part (Fig. 1d,e), deux secteurs de mesure (l'un sur le côté de l'épine = c, l'autre dans l'"aile" = a) ont été sélectionnés à cet effet pour les femelles et trois pour les mâles (l'un sur le côté de l'épine = c, le second dans l'aile = a et le troisième dans l'aile soumise à l'épaississement secondaire = ar). Pour chacun de ces secteurs, l'axe retenu pour les mesures est celui qui présente les plus fortes croissances.

Après 6 mois d'élevage, les individus atteignent un poids de 60 g environ. A cette période, un dimorphisme sexuel relatif à la forme et à la taille des épines pectorales apparaît, de même qu'un changement d'allure de la croissance entre mâles et femelles.

RÉSULTATS

Croissance pondérale

Dans le lot 1, les mâles ont atteint 195 g (± 28 g), au bout d'une année, soit un poids proche du double de celui des femelles (104 g ± 16 g); dans le lot 2 la différence est moins importante: mâles 158 g ± 10 g, femelles 112 g ± 24 g (Tableau II).

Tableau II. - Croissance pondérale (en g) et osseuse (%) dans les différents lots. [*Growth in weight (g) and bony growth (%) in the various experimental series.*]

Série 1	1988-1989						
Date	22/02	07/04	31/05	01/08	30/09	06/12	06/02
Femelles poids	0	25	85	96	97	104	104
ecart-type		3,2	6,8	8,9	9,3	8,6	7,7
effectif		44	40	19	18	18	18
Mâles poids	0	25	85	157	166	191	195
ecart-type		3,2	6,8	16,1	19,0	26,3	14,6
effectif		44	40	20	20	20	20
Série 2	**1988-1989**						
Date	06/06	01/09	02/11	02/01	07/03	17/05	26/07
Femelles poids	0	57	67	105	96	105	112
ecart-type		10,5	6,3	6,6	6,2	7,0	11,6
effectif		28	22	22	22	19	19
Mâles poids	0	57	95	156	143	150	158
ecart-type		10,5	10,1	8,2	7,4	17,9	4,6
effectif		28	5	5	5	4	3

La vitesse de croissance pondérale a ralenti bien avant la fin de l'expérimentation et n'était pas constante (Fig. 2). En effet, pour les deux lots on

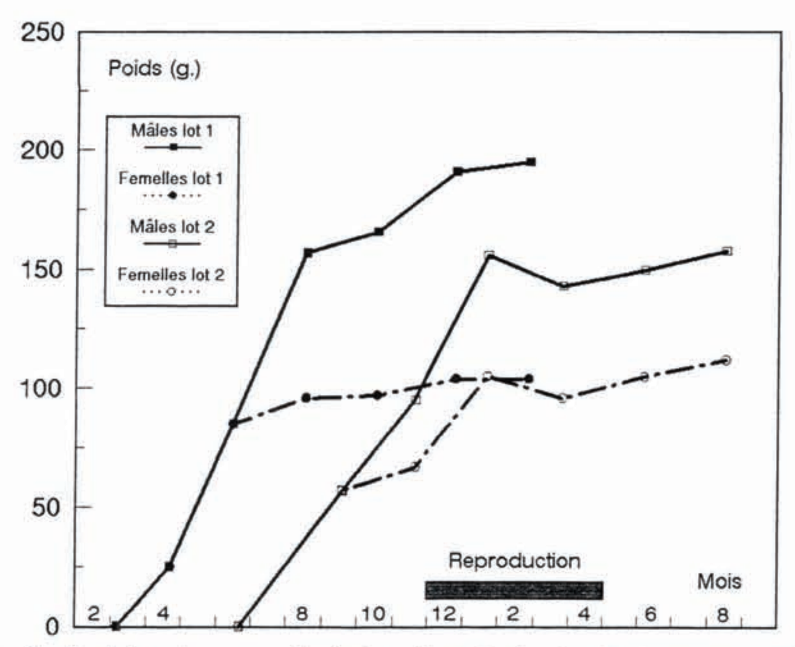


Fig. 2. - Courbe de la croissance pondérale des mâles et des femelles des deux lots d'atipas en fonction du temps. [*Weight growth curve of the males and females in the two samples of atipas against time.*]

peut observer un ralentissement de celle-ci en fin de saison sèche (octobre-novembre), suivi d'une forte prise de poids en début de saison des pluies (décembre-janvier), particulièrement marquée chez les animaux du deuxième lot. La saison sèche correspond probablement à la période de maturation des gonades. En effet, des pontes ont pu être observées dans les deux bassins dès la fin de cette saison, soit du mois de décembre 1988 au mois d'août 1989 avec un pic en décembre-janvier. A la suite de ce pic de reproduction, on note une perte de poids pour les animaux du deuxième lot et une stagnation pour ceux du premier (février-mars).

Histologie osseuse

En coupe transversale, l'épine a une forme grossièrement triangulaire (Fig. 1d,e). Postérieurement, elle s'élargit en deux "ailes" presque égales en taille chez la femelle (Figs 1e, 3b), de taille très inégale chez le mâle (Figs 1d, 3a). Au centre, on observe une cavité médullaire bordée d'un peu d'os secondaire (= os II) légèrement remanié, moins minéralisé que l'os primaire (= os I) et séparé de celui-ci par une ligne cimentante de réversion (Fig. 3). Dans la région frontale ou apicale sont insérés de nombreux odontodes (Fig. 3); l'os situé sous ces odontodes peut présenter des images de remaniement assez nombreuses.

L'os est cellulaire de type pseudo-lamellaire et plus ou moins minéralisé (Figs 3, 4). Le tissu osseux présente également un réseau de canaux vasculaires plus ou moins complexe selon les régions (Figs 3, 4). Les tissus osseux les plus anciens, autour du secteur remodelé de la cavité médullaire, renferment des canaux vasculaires de disposition radiaire (Fig. 3) et quelques canaux longitudinaux parallèles au grand axe de l'épine (Fig. 4a). Dans les ailes, surtout chez les mâles, la vascularisation du tissu osseux est plus abondante qu'au niveau de la région apicale (Fig. 3a,b).

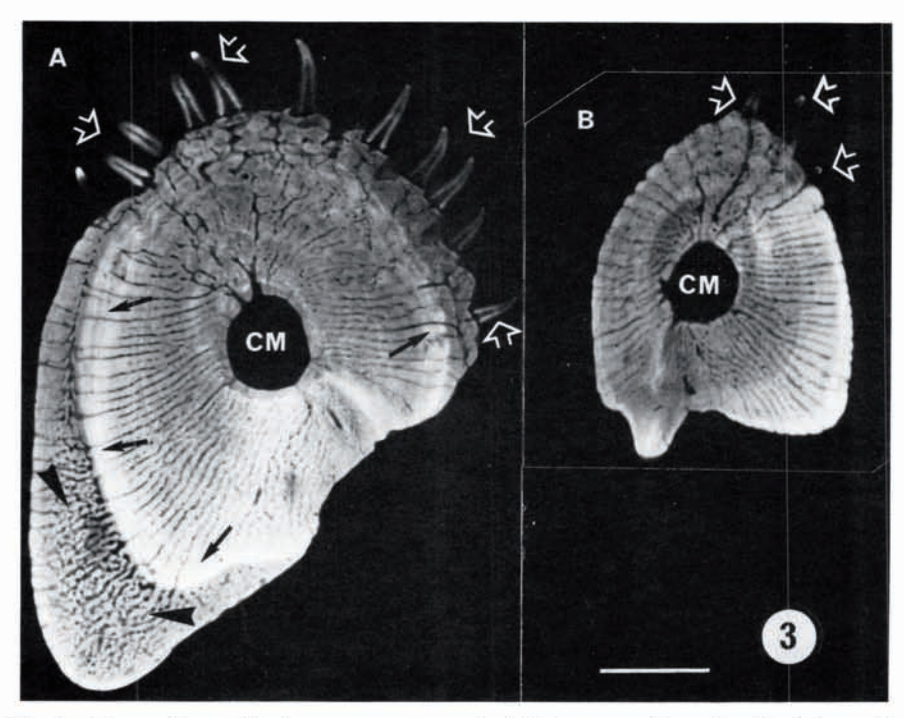


Fig. 3. - Microradiographie de coupes transversales d'épines pectorales. A) mâle du lot 1; B) femelle du lot 1. Noter, pour le mâle, le grand développement d'os très vascularisé (tête de flèche) dans l'une des deux "ailes" de la coupe et la présence d'une région d'os peu vascularisé, légèrement hyperminéralisé (flèches noires). Dans la région apicale des coupes on note la présence d'odontodes (flèches blanches) plus nombreux chez le mâle. La cavité médullaire (CM) est entourée d'un peu d'os secondaire hypominéralisé. (Echelle = 1 mm). [*Microradiography of transversal sections of pectoral spiny rays A) male of the sample 1; B) female of the sample 1. Note, for the male, the important development of vascularized bone (arrow head) in one of the two postero-lateral sides of the section and the presence in a specific area of sligthly vascularized and hypermineralized bone (black arrows). In the apical region of the sections, odontodes (white arrows) more numerous in the male are seen. The medullar cavity (CM) is surrounded by sligthly hypomineralized secondary bone. (Scale bar = 1 mm).*]

Marquage vital et ostéogenèse

Les 6 marques fluorescentes correspondant aux 6 injections successives sont retrouvées sur le tissu osseux des épines (Fig. 5). Cependant l'intensité du marquage à l'orangé de xylénol est irrégulière et souvent faible comparée à celle des deux autres marqueurs.

Les intervalles osseux séparant les marques fluorescentes successives sont de tailles inégales (Figs 5, 6). Comme deux marquages successifs sont espacés de deux mois, on peut affirmer que la vitesse d'ostéogenèse périostique n'est pas constante pendant toute la phase expérimentale. Les dépôts journaliers moyens, calculés sur la base des intervalles entre deux injections varient de 0,2 à 23 μm/jour. Un examen rapide montre, en outre, des différences notables entre mâles et femelles, d'une part, et entre les deux lots, d'autre part. Chez les mâles la "cavité médullaire" s'est agrandie par érosion d'une partie des tissus osseux les plus anciens. En effet, la première marque fluorescente de DCAF est en partie détruite surtout dans la région postérieure de l'épine, ce qui a rendu impossible la mesure de la vitesse de

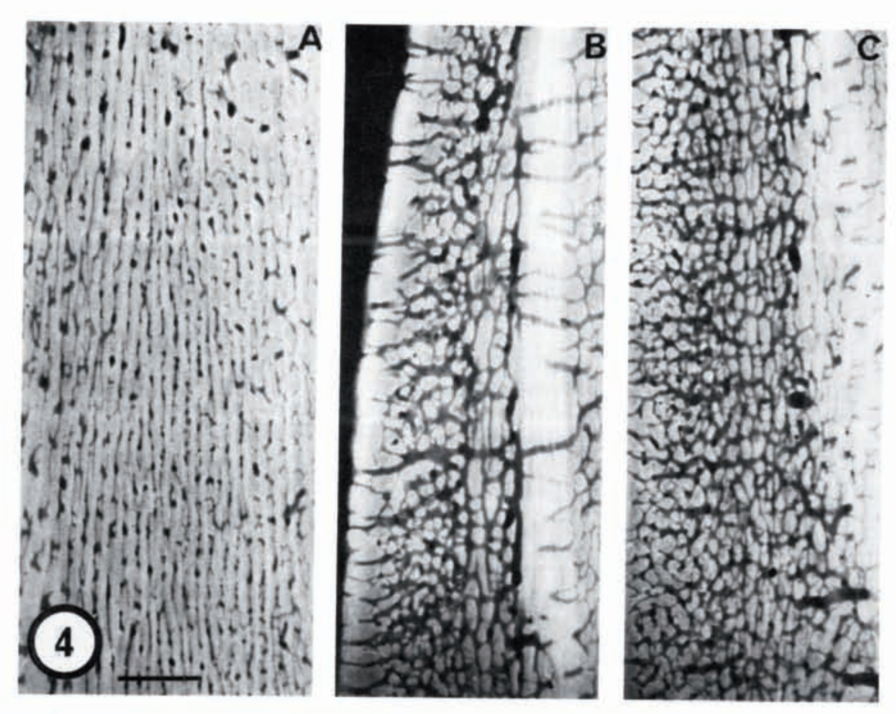


Fig. 4. - Microradiographies de coupes d'épines pectorales d'atipa mâles. A) Coupe frontale passant dans la région centrale et montrant une vascularisation moyenne de l'os. B) Coupe frontale montrant l'os peu vascularisé, légèrement hyperminéralisé, déposé entre T1 et F2, puis l'os de dépôt rapide très vascularisé. C) Coupe sagittale dans l'os hypervascularisé déposé pendant la phase de maturation génitale; le réseau vasculaire est beaucoup plus complexe que celui de l'os du centre (voir A). (Echelle = 500 μm). [*Microradiography of sections in pectoral spiny rays of males. A) Frontal section in the central area showing the sligthly vascularized bone. B) Frontal section showing the weakly vascularized and sligthly hypermineralized bone deposited between T1 and F2, then the vascularized fast growing bone. C) Sagittal section in the hypervascularized bone deposited during the phase of genital maturation; the vascular network is more complex than that of bone in the central area (see A). (Scale bar = 500 µm).*]

croissance de l'os entre les deux premières injections chez une majorité d'exemplaires dans les ailes présentant une reprise de croissance.

Chez les femelles du lot 1, l'ostéogenèse ralentit de 15 μm/jour à 4,8 μm jour après la première injection d'orangé de xylénol (soit à l'âge de 3 mois) et continue progressivement à diminuer pour atteindre 0,6 μm/jour à 10 mois (Tableau III). L'os déposé après cette injection est très peu vascularisé. On obtient des résultats similaires pour les femelles du lot 2 (Fig. 5, Tableau III).

Chez les mâles du lot 1, on observe également une chute marquée de l'ostéogenèse (de 13,3 μm/jour à 6,1 μm/jour) à 3 mois (Fig. 6, Tableau III); l'os déposé entre la 1ère injection de tétracycline et quelques jours après la 2ème injection de fluorescéine (soit entre 5,5 mois et 7,5 mois) présente une vascularisation réduite et un taux de minéralisation plus élevé (Figs 4b, 7) que celui de l'os déposé avant ou après cette période. En revanche, une nette reprise de l'ostéogenèse se manifeste après 7,5 mois sur l'axe ar avec 11,5 μm/jour (Fig. 7). Le mâle du lot 2 présente également une accélération très nette de l'ostéogenèse selon l'axe ar (23 μm/jour) à la même période que les mâles du lot 1 et ce malgré la différence d'âge

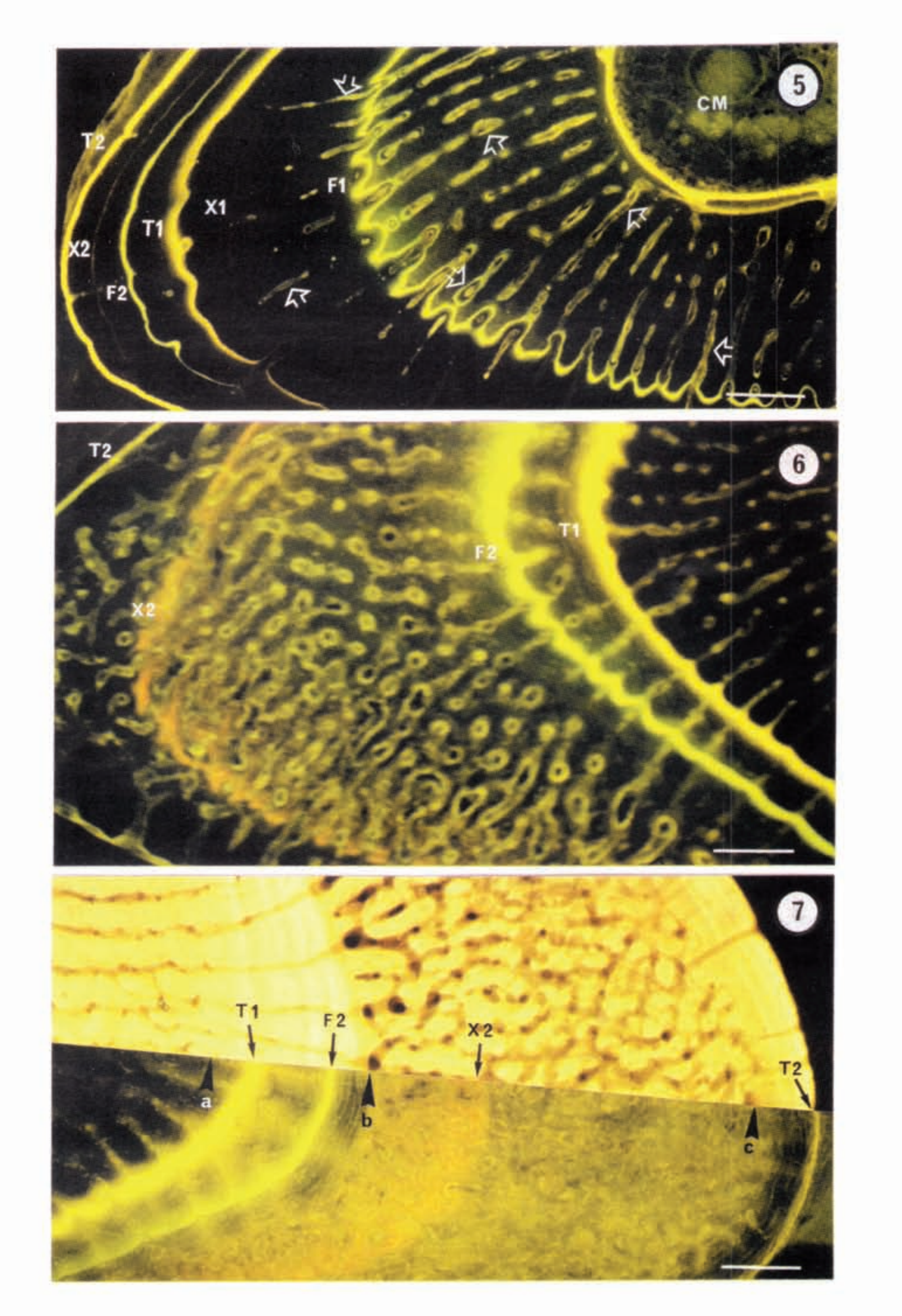

5
T2
X2
F2
T1
X1
F1
CM
6
T2
X2
F2
T1
7
T1
F2
X2
T2
a
b
c

Tableau III. - Croissance osseuse latérale moyenne exprimée en µm/jour et () valeur maximale. [*Average lateral bony growth in µm/day and ( ) maximal value.*]

Série 1	du / au	07/04/88 / 31/05/88	31/05/88 / 01/08/88	01/08/88 / 30/09/88	30/09/88 / 06/12/88	06/12/88 / 06/02/89
Femelles	axe a	15,0(18)	4,8(8)	1,6(2)	0,6(1)	0,6(1)
	axe c	8,1(10)	3,0(4)	0,2(<1)	0,2(<1)	0,4(<1)
Mâles	axe a	13,3(19)	6,1(7)	2,3(5)	4,2(3)	2,0(2)
	axe c	8,9(14)	4,2(5)	1,3(2)	2,0(2)	2,4(3)
	axe ar		9,1(11)	2,7(4)	11,5(18)	8,5(14)
Série 2	**du / au**	**01/09/88 / 02/11/88**	**02/11/88 / 02/01/89**	**02/01/89 / 07/03/89**	**07/03/89 / 17/05/89**	**17/05/89 / 26/07/89**
Femelles	axe a	5,9(7)	1,9(4)	2,1(3)	1,7(3)	1,3(2)
	axe c	3,6(9)	1,3(7)	0,9(1)	0,5(1)	0,6(1)
Mâles	axe a	5,4(6)	3,5(5)	1,6(2)	1,2(2)	0,9(1)
	axe c	3,9(5)	4,6(6)	1,7(2)	1,6(2)	0,7(1)
	axe ar	8,8(9)	23,0(24)	3,3(4)	1,3(2)	1,3(2)

Fig. 5. - Détail d'une coupe transversale de rayon pectoral d'une femelle (lot 2) montrant les 6 marquages successifs. On note, d'une part, un ralentissement progressif de l'ostéogenèse après la première injection de fluorescéine (F1) et, d'autre part, une raréfaction du nombre de canaux vasculaires (flèches). (F = fluorescéine; T = tétracycline; X = orangé de xylénol; CM = cavité médullaire). (Echelle = 200 µm). [*Detail of a cross section in a pectoral spiny ray of a female (sample 2) showing the 6 successive labelling. We note, in the one hand, a progressive slowing of the osteogenesis after the first injection of calcein (F1) and, in the other hand, a scarceness of the number of vascular canals (arrows). (F = calcein; T = tetracycline; X = xylenol orange; CM = medullar cavity). (Scale bar = 200 µm).*]

Fig. 6. - Détail d'une coupe transversale d'une épine pectorale d'un mâle (lot 1), montrant la reprise de croissance osseuse dans la zone épaissie après la 2ème injection de fluorescéine (F2). Le 2ème marquage d'orangé de xylénol (X2) est intervenu aux 2/3 du secteur d'os hypervascularisé. (Echelle = 200 µm). [*Detail of a cross section in a pectoral spiny ray of a male (sample 1), showing the acceleration of osteogenesis in the thick postero- lateral side after the second injection of calcein (F2). The second labelling with xylenol orange (X2) has occurred after deposit of 2/3 of the hypervascularized bone. (Scale bar = 200 µm).*]

Fig. 7. - Détail d'une coupe transversale d'une épine pectorale d'un mâle (lot 1). La moitié supérieure est la microradiographie et la moitié inférieure correspond à l'observation au microscope à fluorescence. La microradiographie montre nettement l'os vascularisé avant T1, l'os peu vascularisé encadrant T1 et F2 (de a à b) l'os hypervascularisé (de b à c) qui s'est déposé entre la 2ème injection de fluorescéine et la 2ème de tétracycline; le dépôt de cet os hypervascularisé a précédé de quelques jours la 2ème injection d'orangé de xylénol et s'est poursuivi, ensuite, pour laisser la place à de l'os peu (quelques canaux radiaires) ou pas vascularisé peu de temps avant la 2ème injection de tétracycline. (Echelle = 200 µm). [*Detail of a cross section in a pectoral spiny ray of a male (sample 1). The upper part of the section corresponds to the microradiography and the lower one to the fluorescent microscope observation. The microradiography shows clearly vascularized bone before T1, sligthly vascularized bone surrounding T1 et F2 (from a to b) and hypervascularized bone (from b to c) that has been deposited between the 2nd injection of calcein and the 2nd injection of tetracycline; the deposit of this hypervascularized bone has preceded the 2nd injection of xylenol orange from some days and has continued after with sligthly vascularized (some radial vascular canals) or unvascularized bone shortly before the 2nd injection of tetracycline. (Scale bar = 200 µm).*]

(Tableau III). Cette reprise de l'ostéogenèse, chez les mâles des deux lots, se caractérise histologiquement par le dépôt d'un os très vascularisé comme le montrent, notamment, les microradiographies (Figs 3a, 4b,c, 7). Les canaux vasculaires présentent des directions très variées permettant de caractériser un os de type réticulaire (Ricqlès, 1975).

Dimorphisme de la croissance osseuse

La croissance selon un axe déterminé, sur une section d'épine, se rapporte toujours à la taille du poisson. Nous nous sommes intéressés à la croissance relative de cette pièce osseuse, ce qui a permis de s'affranchir du biais introduit par les variations du diamètre de l'épine en fonction du niveau de coupe par rapport à sa base. C'est pourquoi chaque mesure est exprimée en pourcentage de la croissance maximale de la pièce, c'est-à-dire de la distance entre son centre et sa bordure (Tableau IV, Fig. 8). Chez les femelles, les mesures effectuées selon les deux axes de l'épine pectorale montrent des valeurs constamment proportionnelles, ce qui traduit un accroissement en épaisseur sans déformation (= par homothétie) de cette épine (Fig. 9a). La légère dispersion des points sur le diagramme pour les faibles valeurs est due à la difficulté de localisation du centre réel de la pièce osseuse, ce qui entraine une erreur de mesure d'autant plus importante que les valeurs de a et c sont faibles.

En ce qui concerne les mâles, la croissance osseuse selon les axes a et c est également homothétique (Fig. 9b). En revanche, ce n'est pas le cas selon l'axe ar (Fig. 9c). En effet, avant la maturation génitale la croissance des deux ailes est quasiment identique dans les deux lots de mâles, puis dès la première maturation génitale il s'établit une rupture de pente très nette (Fig. 8) dans la vitesse de croissance entre les deux ailes, ce qui correspond en fait à la mise en place du caractère sexuel secondaire osseux (épaississement de l'épine).

DISCUSSION

Typologie osseuse et vitesse de l'ostéogenèse

L'épine pectorale de l'atipa montre une étroite relation entre la typologie osseuse et les vitesses d'ostéogenèse. Les plus grandes vitesses mesurées (en moyenne 23 µm/j), lors de la période d'épaississement des épines, correspondent à la mise en place d'un os très vascularisé de type réticulaire (Ricqlès, 1975, 1976, 1977) avec des canaux (et cavités) vasculaires dans toutes les directions de l'espace. Ces vitesses d'ostéogenèse journalières sont, dans certaines directions de l'os, très élevées et comparables, voire supérieures, à celles qui ont été mesurées chez certains Mammifères. Par exemple, dans l'os canon (métatarsien) de la chèvre, des vitesses d'ostéogenèse atteignant 10 µm/j ont été mesurées pour de l'os pseudo-lamellaire (Ricqlès *et al.*, 1991); chez de jeunes visons *(Mustela vison)* l'os trabéculaire de la mandibule se dépose à une vitesse moyenne de 17 à 46 µm/j (Buffrénil *et al.*, 1984). Dans bien d'autres cas, les vitesses de l'ostéogenèse chez les Mammifères sont inférieures à celles de l'atipa, notamment pour de l'os lamellaire de diaphyse de boeuf: 1 à 2 µm/j (Ricqlès *et al.*, 1991). A l'opposé, lorsque l'ostéogenèse est très lente (0,2 à 2 µm/j), comme chez les femelles en fin d'expérience ou chez les mâles en août-septembre 1988, l'os est pauvre, voire dépourvu de canaux vasculaires. Lorsqu'ils sont présents, ces canaux ont essentiellement une disposition radiaire. Les vitesses de croissance osseuse de ces régions sont semblables à celles de l'os pseudolamellaire ou lamellaire des Reptiles Squamates comme le lézard vert (Castanet, 1985) et la vipère aspic (Castanet et Naulleau, 1985), des Amphibiens Urodèles (Francillon, 1979) ou encore de divers Téléostéens (Meunier, 1972; Meunier et Boivin, 1978).

Tableau IV. - Croissance osseuse exprimée en % du diamètre maximal de l'épine. [*Bony growth in % of the maximal diameter of the spiny ray.*]

Série 1	---------------------------					1988-1989--
Date	22/02	07/04	31/05	01/08	30/09	06/12	06/02
Femelles épine	0	41	78	92	96	98	100
ecart-type		6,0	3,2	1,5	1,6	1,2	
Mâles axes a c							
epine	0	36	66	81	86	93	100
ecart-type		6,5	6,4	5,9	5,5	2,9	
Mâles axe ar							
epine	0	16	48	63	67	87	100
ecart-type			7,0	6,4	6,5	5,3	
Série 2	-------------		1988-1989	-------------------			
Date	06/06	01/09	02/11	02/01	07/03	17/05	26/07
Femelles poids	0	69	83	88	93	96	100
ecart-type		7,7	5,3	2,4	1,3	0,8	
Mâle axes a c							
epine	0	53	69	84	91	97	100

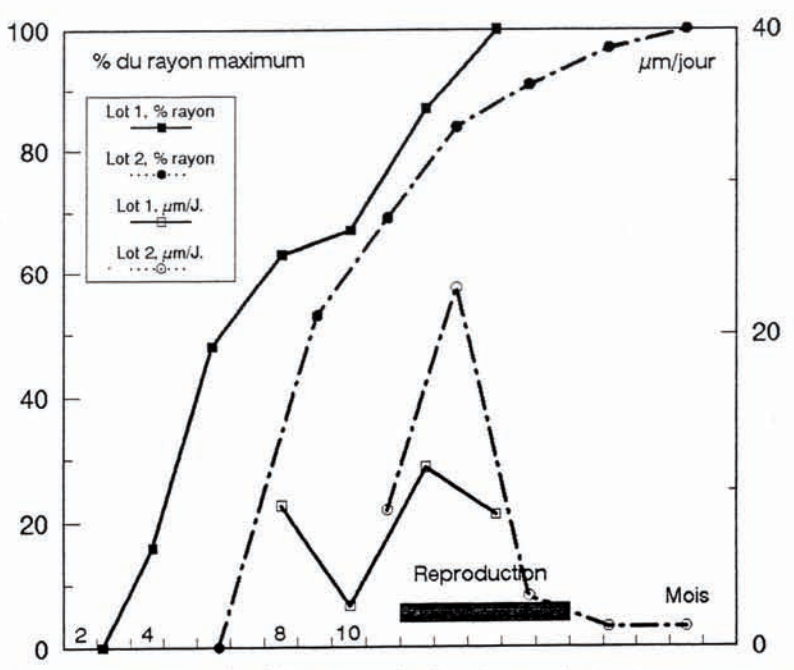


Fig. 8. - Croissance osseuse des épines pectorales des atipas mâles des lots 1 et 2 sèlon l'axe ar (exprimée en % de la croissance maximale du rayon) et vitesse moyenne de l'ostéogenèse (µm/jour). [*Bony growth of the pectoral spiny rays in the males of the two samples along axis ar (in % of maximal growth of the ray) and average rate of osteogenesis (µm/day).*]

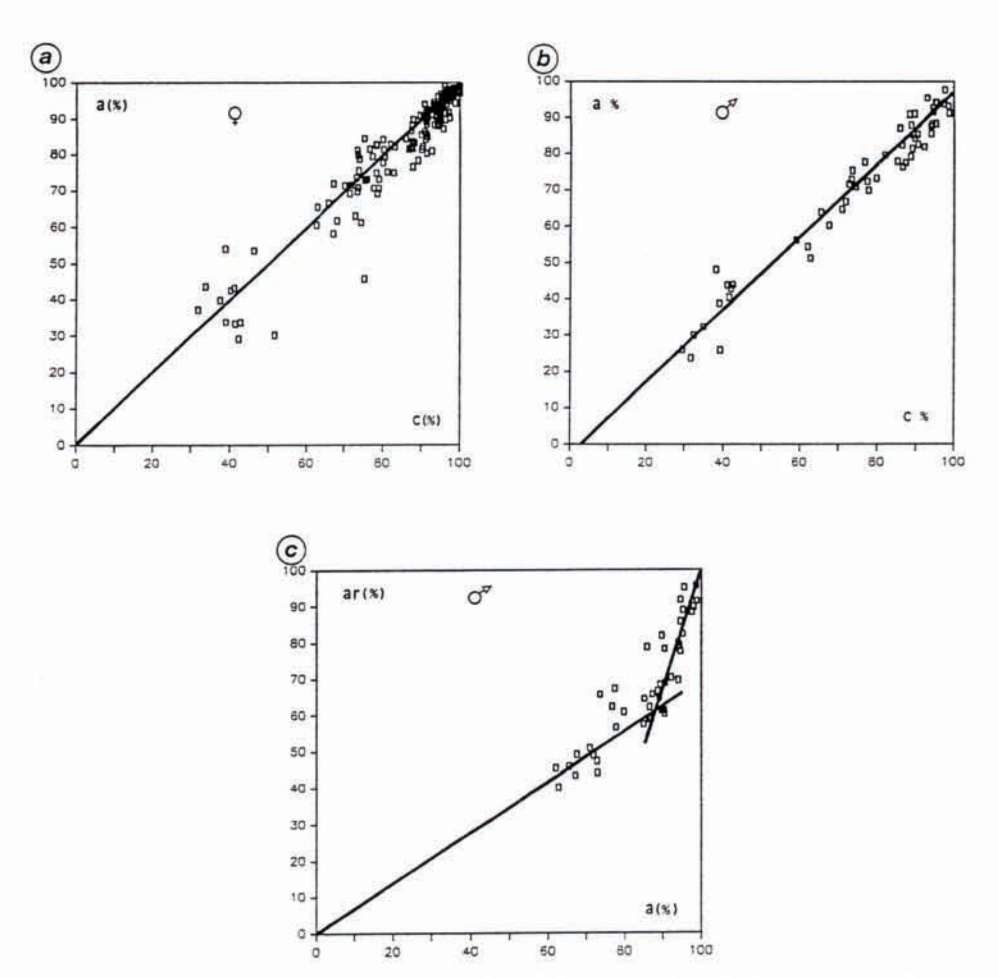


Fig. 9. - Croissance osseuse (exprimée en %) dans le lot 1, mesurée selon les axes a et c chez les femelles (a) et les mâles (b) et selon les axes a et ar chez les mâles (c). La relation parfaitement linéaire observée sur les deux premiers graphiques traduit une croissance homothétique selon les axes a et c. En revanche, la répartition des points se fait selon deux droites pour le troisième graphique, traduisant ainsi une allométrie de croissance selon l'axe ar. [*Bony growth (in %) in sample 1 along the axes a and c in the females (a) and in the males (b), and along axes a and ar in the males (c). The well fit linear relation observed on the two first graphs represents an homothetic growth along axes a and c. On the other hand the points are distributed by two straight lines on the third graph that characterizes an allometric growth along axis ar.*]

Dans nos conditions expérimentales, la reprise de croissance osseuse chez les mâles, avec mise en place d'un os particulièrement bien vascularisé, correspond à la période de chaque maturation génitale comme le montrent les marqueurs. Le dépôt de cette substance osseuse hypervascularisée constitue donc un caractère sexuel secondaire. La localisation dissymétrique de ce processus d'ostéogenèse contribue d'ailleurs à changer l'emplacement du plan de symétrie de l'épine, comme on peut l'observer sur une préparation réalisée sur un spécimen sauvage. Chez la femelle, le processus d'ostéogenèse conserve une grande régularité et ne présente pas de reprise notable après la première maturation génitale. En revanche, dans les deux sexes lors des ralentissements de croissance suivant la période de maturation

génitale, l'os qui se dépose lentement est très peu vascularisé, y compris dans les zones d'épaississement des mâles. Il présente en outre un degré de minéralisation plus élevé (Figs 3, 4b).

Ce caractère sexuel secondaire de l'épine pectorale des atipas mâles est un modèle particulièrement intéressant qui soulève d'importantes questions biologiques. Notamment, quels sont les facteurs (épigénétiques, génétiques) et les divers relais biologiques (endocriniens,...) qui contrôlent la mise en activité spécifique des diverses catégories cellulaires, et tout particulièrement des ostéoblastes, intervenant dans le phénomène: déclenchement, localisation précise, réalisation et arrêt de l'épaississement osseux de l'épine du mâle en reproduction. Ces différents aspects pourraient être abordés relativement facilement par des voies expérimentales puisque l'élevage de l'atipa est en partie maitrisé maintenant.

Applications squelettochronologiques

Les différentes observations effectuées sur le matériel expérimental montrent un synchronisme entre divers phénomènes. Ainsi, les ralentissements de croissance pondérale qui s'effectuent lors de la grande saison sèche pour le lot 1 correspondent au dépôt d'os peu vascularisé (CHTC 1 et DCAF 2) chez les mâles comme chez les femelles. L'accroissement pondéral qui suit cette période chez les mâles, accompagné de la différenciation structuro-fonctionnelle (Machado-Allison et Zaret, 1984; Winemiller, 1987) de l'épine, correspond à l'apparition des premiers nids et des premières pontes. De la même façon, dans le lot 2, la croissance pondérale et la croissance osseuse de l'épine pectorale présentent un ralentissement très net lors de la petite saison sèche. Ainsi, chaque saison sèche exerçant un ralentissement de la croissance, l'atipa devrait présenter, dans nos conditions expérimentales et *in natura*, un double cycle annuel de croissance osseuse. Cette hypothèse devra être testée sur les spécimens restés en élevage, d'une part, sur les populations sauvages, d'autre part.

La reprise active de l'ostéogenèse sur l'épine des mâles est un des aspects significatifs de l'épaississement du rayon épineux lors de la reproduction. La deuxième injection d'OrX en décembre se trouve plutôt au début de cette phase d'ostéogenèse, bien que chez certains spécimens cette marque fluorescente soit plutôt située en fin d'ostéogenèse rapide. Tous les mâles ne sont donc pas parfaitement synchronisés en ce qui concerne le déclenchement des phénomènes d'ostéogenèse active. Une fois la reproduction terminée, la croissance pondérale se poursuit lentement et la vitesse de l'ostéogenèse diminue rapidement, ce qui se traduit par un retour à un dépôt d'os peu vascularisé chez les mâles.

La croissance osseuse s'effectue selon un scénario régulier caractérisé par une baisse progressive, au cours de la vie de l'animal, du gain quotidien de substance osseuse selon les axes a et c, chez les mâles comme chez les femelles (Fig. 9a,b,c). En revanche, chez les mâles il y a une reprise de l'ostéogenèse avec dépôt d'os vascularisé selon la direction ar au moment de la maturation gonadique. Cette particularité structurale du tissu osseux de l'épine pectorale des mâles devrait être intéressante pour les études squelettochronologiques d'animaux capturés dans la nature. S'il s'avère que chaque maturation génitale se caractérise par une reprise de l'ostéogenèse de l'épine pectorale, le dénombrement des zones d'os très vascularisé donnera directement le nombre de reproductions effectuées par l'animal étudié. Si la période des reproductions par année *in natura* peut être précisée, il sera également possible, par l'étude histologique des épines pectorales, de déterminer assez facilement l'âge des animaux, tout au moins pour les mâles.

CONCLUSION

La reprise de l'ostéogenèse dans un secteur déterminé de l'épine pectorale lors de la maturation génitale des mâles constitue un véritable caractère sexuel secondaire squelettique propre à l'atipa. Ce phénomène est exceptionnel, à notre connaissance, chez les Téléostéens. En général, les processus d'ostéogenèse marquent un net ralentissement consécutif à la baisse de la croissance globale des organismes qui marque l'accession à l'état adulte. Mis à part le cas de nombreux Mammifères (ex: bois des Cervidés: Wislocki, 1942; Bubenik, 1966) et celui des Oiseaux (os médullaire: Taylor et Belanger, 1969; Taylor, 1970; Simkiss, 1975), tout au plus pouvons nous signaler, indépendamment de différences qui pourraient être imputées à un dimorphisme de la taille, un autre cas de dimorphisme de la structure histologique des os longs chez la grenouille rousse, où la résorption endostéale dans les cavités médullaires est nettement plus développée chez la femelle que chez le mâle (Smirina, 1983; Hamelaar, 1986).

De plus, le cas de l'"os de maturation génitale" du mâle d'atipa montre une nouvelle fois qu'il existe une relation étroite entre la typologie et la vitesse de dépôt de la substance osseuse d'apposition dans l'os compact. Cela conforte l'idée que la structure du tissu osseux primaire est davantage liée à des contraintes physiologiques générales et locales de l'organisme plutôt qu'à sa place générale dans "l'échelle évolutive" des Vertébrés (Francillon, *et al.*, 1990; Ricqlès *et al.*, 1991).

RÉFÉRENCES

BOUJARD T., LE BAIL P.-Y. & P. PLANQUETTE, 1988. - Données biologiques sur quelques espèces continentales de Guyane française d'intérêt piscicole. *Aquat. Living Resour.*, 1: 107-114.

BOYE M., CABAUSSEL G. & Y. PERROT, 1979. - Atlas des départements français d'Outre-Mer IV. La Guyane. Ed. CNRS-ORSTOM, 82 pp.

BUBENIK A.B., 1966. - Das Geweich und Gehörne. P. Parey, Ed., Hamburg, Berlin, 214 pp.

BUFFRÉNIL V. de & M. PASCAL, 1984. - Croissance et morphogenèse postnatales de la mandibule du vison (*Mustela vison*, Schreiber): données sur la dynamique et l'interprétation fonctionnelle des dépôts osseux mandibulaires. *Can. J. Zool.*, 62: 2026-2037.

CASTANET J., 1985. - La squelettochronologie chez les Reptiles. I- Résultats expérimentaux sur la signification des marques de croissance squelettiques utilisées comme critère d'âge chez les lézards et les tortues. *Ann. Sc. nat. Zool.*, 7: 23-40

CASTANET J. & G. NAULLEAU, 1985. - La squelettochronologie chez les Reptiles. II- Résultats expérimentaux sur la signification des marques de croissance squelettiques utilisées comme critère d'âge chez les Ophidiens. Remarques sur la croissance et la longévité de ces animaux. *Ann. Sc. nat. Zool.*, 7: 41-62.

FRANCILLON H., 1979. - Etude expérimentale des marques de croissance sur les humérus et les fémurs de Tritons crêtés (*Triturus cristatus cristatus* Laurenti) en relation avec la détermination de l'âge individuel. *Acta Zool. (Stockh.)*, 60 : 223-232.

FRANCILLON-VIEILLOT H., BUFFRÉNIL V. de, CASTANET J., GÉRAUDIE J., MEUNIER F.J., SIRE J.Y., ZYLBERBERG L. & A. de RICQLÈS, 1990. - Microstructure and mineralization of Vertebrate skeletal tissues. *In*: Skeletal biomineralization: patterns, processes and evolutionary trends. (Carter J.G., ed.), Vol. 1: 471-530, Van Nostrand Reinhold, New-York.

HAMELAAR A., 1986. - Demographic study on *Bufo bufo* L. (Anura, Amphibia) from different climates, by means of skeletochronology. Offsetdrukkerij Fac. Wiskunde Natuurwet., Nijmegen, Pays-Bas, 133 pp.

LECOMTE F., MEUNIER F.J. & R. ROJAS-BELTRAN, 1985. - Mise en évidence d'un double cycle de croissance annuel chez un Silure de Guyane, *Arius couma* (Val., 1839) (Teleostei, Siluriforme, Ariidae) à partir de l'étude squelettochronologique des épines des nageoires. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 300: 181-184.

LECOMTE F., MEUNIER F.J. & R. ROJAS-BELTRAN, 1986. - Données préliminaires sur la croissance de deux téléostéens de Guyane, *Arius proops* (Ariidae, Siluriformes) et *Leporinus friderici* (Anostomidae, Characoïdei). *Cybium*, 10: 121-134.

LECOMTE F., MEUNIER F.J. & R. ROJAS-BELTRAN, 1989. - Some data on the growth of *Arius proops* (Ariidae, Siluriforme) in the estuaries of French Guyana. *Aquat. Living Resour.*, 2: 63-68.

MACHADO-ALLISON A.J. & T.M. ZARET, 1984.- Datos sobre la biologia reproductiva de *Hoplosternum littorale* (Siluriformes-Callichthyidae) de Venezuela. *Acta Cient. Venezol.*, 35: 142-146.

MEUNIER F., 1972. - Marquages simples et marquages multiples du tissu osseux de quelques Téléostéens par des substances fluorescentes. *C. R. Acad. Sci.*, 275: 1685-1688.

MEUNIER F.J., 1974. - La technique de marquage vital des tissus squelettiques des poissons. *Bull. Fr. Pisc.*, 255: 51-57.

MEUNIER F.J. & G. BOIVIN, 1978. - Action de la fluorescéine, de l'alizarine, du bleu de calcéine et de diverses doses de tétracycline sur la croissance de la truite et de la carpe. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 18: 1293-1308.

MEUNIER F.J., LECOMTE F. & R. ROJAS-BELTRAN, 1985. - Mise en évidence de doubles cycles annuels de croissance sur le squelette de quelques téléostéens de Guyane. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 110: 285-289.

MEUNIER F.J. & M. PASCAL, 1981. - Etude expérimentale de la croissance cyclique des rayons de nageoire de la carpe (*Cyprinus carpio* L.). Résultats préliminaires. *Aquaculture*, 26: 23-40.

RICQLÈS A. de, 1975. - Recherches paléohistologiques sur les os longs des Tétrapodes. VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l'histoire des tissus osseux des Tétrapodes (1ère partie). *Ann. Paléont. (Vertébrés)*, 61: 51-129.

RICQLÈS A. de, 1976. - Recherches paléohistologiques sur les os longs des Tétrapodes. VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l'histoire des tissus osseux des Tétrapodes (2ème partie). *Ann. Paléont. (Vertébrés)*, 62: 71-126.

RICQLÈS A. de, 1977. - Recherches paléohistologiques sur les os longs des Tétrapodes. VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l'histoire des tissus osseux des Tétrapodes (2ème partie, suite). *Ann. Paléont. (Vertébrés)*, 63: 33-56.

RICQLÈS A. de, MEUNIER F.J., CASTANET J. & H. FRANCILLON-VIEILLOT, 1991. - Comparative microstructure of bone. *In*: Bone (Hall B.K., ed.), 3: (sous presse).

SIMKISS K., 1975. - Calcium and avian reproduction. *In:* Avian physiology, (M. Peaker, ed.) *Symp. Zool. Soc. Lond.*, 35: 307-337.

SMIRINA E.M., 1983. - Age determination and retrospective body size evaluation in the live common toads (*Bufo bufo*). *Zoolog. J.*, 62: 437-444 (en russe).

TAYLOR T.G., 1970. - The role of the skeleton in eggshell formation. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 10: 83-91.

TAYLOR T.G. & L.F. BELANGER, 1969. - The mechanism of bone resorption in laying hens. *Calc. Tissue Res.*, 4: 162-173.

WEBER D.D. & G.J. RIGDWAY, 1967. - Marking pacific salmon with tetracycline antibiotics. *J. Fish. Res. Can.*, 24: 849-865.

WINEMILLER K.O., 1987. - Feeding and reproductive biology of the currito, *Hoplosternum littorale*, in the Venezuelan llanos with comments on the possible function of the enlarged male pectoral spines. *Env. Biol. Fish.*, 20: 219-227.

WILSLOCKI G.B., 1942. - Studies on the growth of the deer antlers. 1. On the structure and histogenesis of the antlers of the Virginia deer (*Odocoileus virginianus borealis*). *Amer. J. Anat.*, 70-71: 371-415.

Reçu le 15.01.1991.
Accepté pour publication le 22.02.1991.